

PRÓBA OKREŚLENIA SYNAPTYCZNEGO CHARAKTERU DZIAŁANIA POCHODNYCH TETRAHYDRO- β -KARBOLINY I γ -BUTYROLAKTONU

Zakład Farmakologii PAN w Krakowie

Kierownik: prof. dr J. Hano

Jednostykowa droga przezspoidłowa (transkalosalna) stanowi ważny obiekt badań neurofarmakologicznych, za pomocą którego dokonano oceny synaptycznego działania wielu związków psychotropowych. Marrazzi [10] uważa hamowanie synaptycznego przewodnictwa przezspoidłowego za cechę charakterystyczną dla substancji psychotropowej. Również fakt znoszenia tego hamulcowego działania, szerzącego się drogą spoidłową, przez chloropromazyne i inne neuroleptyki, ma być ich własnością znamionną.

W obecnej pracy wykorzystano jednostykową drogę przezspoidłową dla określenia ewentualnego synaptycznego charakteru dwóch różnych grup związków chemicznych: pochodnych β -karbolinowych oraz pochodnych γ -butyrolaktonu. Ich działanie na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) wykazano przy użyciu metody behawioralno-elektroencefalograficznej w pracach poprzednich. Wpływ pochodnych karbolinowych na eeg i zachowanie zwierząt upodabniał się do działania LSD. Najbardziej typową zmianą pokarbolinową była desynchronizacja czynności bioelektrycznej hipokampa, znosząca regularny rytm *theta* [12]. Podstawione pochodne γ -butyrolaktonu, w odróżnieniu od macierzystego nie podstawionego związku powodującego uogólnioną synchronizację eeg, odznaczały się wybiórczym, hipersynchronizującym działaniem na struktury limbiczne, a zwłaszcza na zespół jąder migdałowatych [4].

Grundfest [2] uważa, że wnioski dotyczące natury synaptycznej jakiegось związku chemicznego powinny być wypadkową kilku wyników cząstkowych, uzyskanych różnymi odmianami metody potencjałów wywołanych. Zgodnie z tą zasadą w obecnych doświadczeniach zastosowano dwie odmiany odpowiedzi wywołanych: przezspoidłowe (PO) i asocjacyjne (AO). W wypadku AO jednostykową drogą przezspoidłową szerzył się wpływ pochodzący z drażnienia chemicznego, natomiast w wypadku PO — z drażnienia elektrycznego.

MATERIAŁ I METODA

Badanie ostre przeprowadzono na 30 kotach obojga płci, o ciężarze 2,5—3,2 kg. U 20 zwierząt, które przeznaczono do doświadczeń z AO, stosowano narkozę chloralozową. Pozostałe koty, u których obserwowano odpowiedzi PO, usypiano amytałem. Opis metody i aparatury rejestracyjnej, za pomocą której uzyskiwano AO, znajduje się

w pracy poprzedniej [14]. W pracy obecnej śledzono, jak nakorowe drażnienie chemiczne, oddziałujące poprzez spoidło wielkie, wpływa na drugostronne AO, odbierane w symetrycznym punkcie kory asocjacyjnej. Dlatego czaszkę otwierano obustronnie, odsłaniając symetrycznie przednie części zakrętu bocznego i nadsylwialnego kory asocjacyjnej. W celu sprawdzenia, czy działanie chemiczne związku, zmieniające parametry drugostronnej AO, przenosi się za pośrednictwem włókien spoidłowych, przecinano spoidło wielkie. Przecięcia spoidła dokonywano metodą stereotaktyczną Magniego i współpr. [8] w modyfikacji własnej [13].

PO odbierano elektrodami srebrnymi kulkowymi z przedniej części zakrętu nadsylwialnego. Wywoływano je dwubiegunowym drażnieniem elektrycznym symetrycznego miejsca sąsiedniej półkuli. Bodźce elektryczne o natężeniu 0,5—3,0 mA, trwające 0,1 msek., stosowane poprzez jednostkę przeciwwzkióceniovą (SIU — 4B), pochodziły ze stymulatora Grassa (typ S-4-B). PO zapisywano podobnie jak AO.

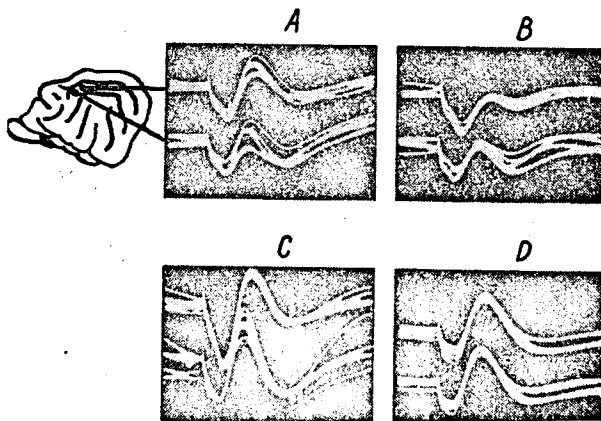
We wszystkich doświadczeniach drażnienie chemiczne polegało na nakorowym umieszczeniu przymoczek przepojonych roztworami badanych związków w różnych stężeniach. Pochodne 6-metoksy-1,2,3,4-tetrahydro- β -karboliny, które w pozycji 1 miały następujące podstawniki: metylowy (THK-1), 2-pirydyłowy (THK-2) i 4-pirydynowy (THK-4), używano w stężeniach 10^{-5} — 10^{-3} g/ml. Roztwory γ -butyrolaktonu (BLON) oraz podstawionych pochodnych: 3-p-aminofenilo-5-metylo- γ -butyrolaktonu (LC) i 3-N-(dwumetyloaminofenilo-3-allofanilo-5-metylo- γ -butyrolaktonu (LP) miały stężenia 10^{-4} do 10^{-2} g/ml. Jako związków kontrolnych używano LSD i strychniny w stężeniu 10^{-4} g/ml oraz roztworu fizjologicznego NaCl.

Przy statystycznym opracowywaniu uprzednionego obrazu AO stosowano test *t* Studenta, a granice prawdopodobieństwa odczytywano z tablic Fischera.

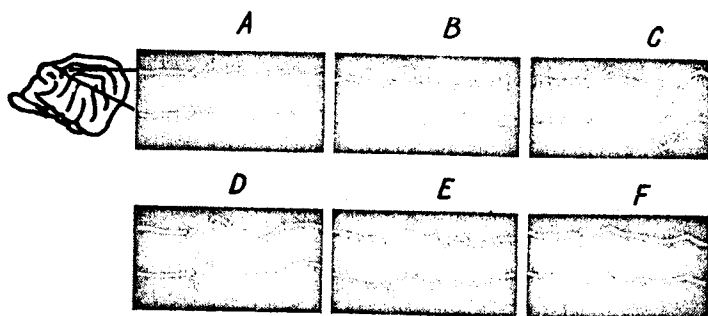
WYNIKI

THK 2 w stężeniu 10^{-4} g/ml, podana w przymoczcze nakorowej wywoływała, po okresie przejściowej depresji, wzrost amplitudy wszystkich załamków PO (ryc. 1). Ponadto pochodne karbolinowe powodowały powstawanie tzw. zjawisk późnych, których latencja wynosiła 50—60 msek. Zjawiska późne, odznaczające się wybitną zmiennością, występowały w postaci seryjnych oscylacji (ryc. 2 E), lub w postaci załamków zbliżonych kształtem do PO pierwotnej (ryc. 2 C).

BLON i jego pochodne działały jednolicie, jakkolwiek w odwrotnym kierunku niż pochodne karbolinowe. Działanie to wyrażało się w częściowej redukcji amplitudy lub w całkowitym zniesieniu wszystkich załam-

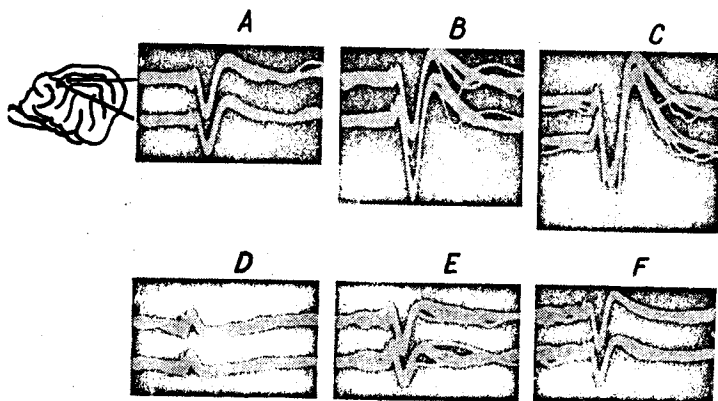


Ryc. 1. Wpływ THK-2 na PO. A — zapis wyjściowy, B — 2 min., C — 5 min., D — 20 min. po rozpoczęciu drażnienia chemicznego. Kreska pozioma oznacza czas 10 msek, pionowa — 150 μ V



Ryc. 2. Wpływ THK-2 na PO. A — zapis wyjściowy, B — 2 min., C, D, E — 5 min., F — 20 min. po rozpoczęciu drażnienia chemicznego. Kreska pozioma oznacza czas 25 msec, pionowa — 200 μ V

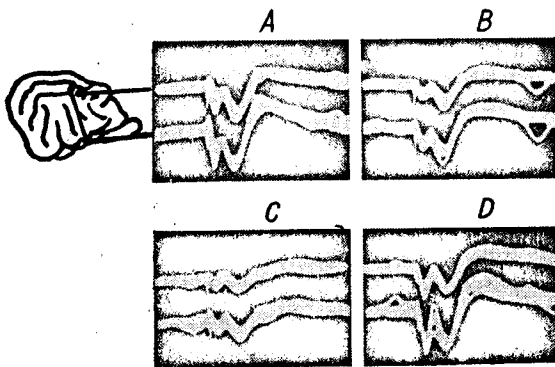
ków PO. W celu ujawnienia pełnego efektu depresyjnego BLON, LC i LP, odpowiedzi wywołane były poddawane uprzednio działaniu strychniny. Strychnina, wywołując mechanizm rekrutacyjny, powodowała znaczny wzrost napięcia całej PO, a zwłaszcza załamka dodatniego (ryc. 3 B i C). Pod wpływem BLON w stężeniu 10^{-4} g/ml wysokonapięciowa, postrychninowa odpowiedź ulegała stłumieniu (ryc. 3 D). PO powracała do sytuacji wyjściowej po 20 min. (ryc. 3 F). Działanie LC i LP miało również depresyjny charakter, jakkolwiek w porównaniu z BLON było słabsze i ujawniało się po dłuższym okresie utajenia (ryc. 4).



Ryc. 3. Wpływ BLON na PO. A — zapis wyjściowy, B — 2 min., C — 5 min. po podaniu strychniny, D — 5 min., E — 10 min. F — 20 min. po podaniu BLON. Kreska pozioma oznacza 10 msec, pionowa 150 μ V

Wyniki uzyskane metodą AO były bardziej złożone niż opisane powyżej dane doświadczalne z PO. Wpływ jednostronnego chemicznego drażnienia na obustronne AO przedstawia ryc. 5.

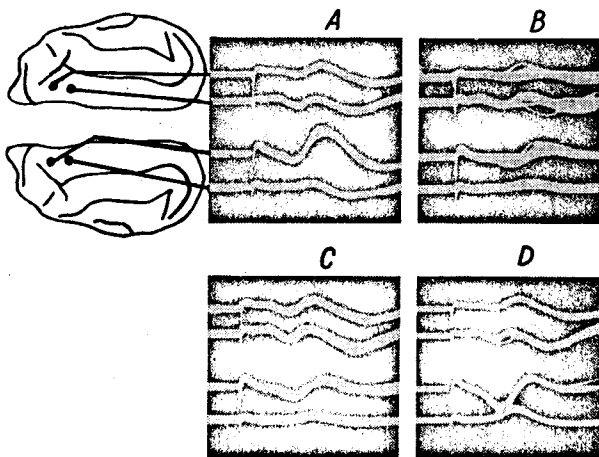
Drażnienie to wykonywano THK 1 podawano na korę asocjacyjną po stronie prawej, czyli po stronie elektrycznego drażnienia nerwu kulszowego, warunkującego powstanie AO. 5 minut po nakorowym podaniu związku spostrzegano całkowitą depresję odpowiedzi w miejscu drażnienia chemicznego oraz częściowe tłumienie po stronie przeciwnej. AO



Ryc. 4. Wpływ LC na PO. A — zapis wyjściowy, B — 2 min., C — 5 min., D — 20 min. po podaniu LC. Oznaczenia — jak na ryc. 3

wracały do stanu wyjściowego w ciągu następnych 10—15 min., szybciej po stronie drażnienia chemicznego.

W wypadku stosowania mniejszych stężeń pochodne karbolinowe wykazywały bardziej zróżnicowane działanie polegające na obniżeniu jednych załamek odpowiedzi, a powiększeniu drugich. Związki karbolinowe tłumią ujemność pierwotną, równocześnie wywołując wzrost elementów następczych: fazy dodatniej i „ujemności wtórnej”. Co więcej, wpływ drażnienia chemicznego ujawniający się na drugostronnych AO, a szerzący się drogą poprzeczspoidłową, nie był jednolity i zależał również od strony drażnienia elektrycznego. Inaczej wyglądały AO, gdy miejsce drażnienia chemicznego było zgodne ze stroną drażnienia elektrycznego, a inaczej, gdy oba typy drażnienia wykonywano po stronach przeciwnych. W wyniku tego nie zawsze kierunek zmian załamka AO po jednej stronie odpowiadał kierunkowi zmian tego samego elementu po stronie przeciwnej. O złożonych związkach międzypółkulowych świadczy tab. 1,



Ryc. 5. Wpływ THK-1, podanej na korę prawą na obustronne AO. A — zapis wyjściowy, B — 5 min., C — 10 min., D — 20 min. po podaniu THK-1. Kreska pozioma oznacza czas 20 msec, pionowa — 300 μ V

Tabela 1

Wpływ THK-1 i LSD na amplitudę załamka późnego AO w miejscu podania związku i w symetrycznym punkcie drugiej półkuli

THK-1 na „prawą korę”			
„kora lewa”		„kora prawa”	
faza „+”	2 minuty po 101% „-” 10 minut po 144% „+++” ↑	faza „+”	2 minuty po 120% „+++” 10 minut po 115% „-” ↑
faza „-”	2 minuty po 113% „+++” 10 minut po 152% „+++” ↑	faza „-”	2 minuty po 127% „+++” 10 minut po 150% „+++” ↑
LSD na „lewą korę”			
„kora prawa”		„kora lewa”	
faza „+”	2 minuty po 57% „+++” ↓ 10 minut po 86% „-” ↓	faza „+”	2 minuty po 96% „-” 10 minut po 123% „+++” ↑
faza „-”	2 minuty po 137% „-” 10 minut po 129% „+++” ↑	faza „-”	2 minuty po 71% „+++” 10 minut po 104% „-” ↓

Drażnienie: prawy nerw kulszowy. Odbiór: przednia część zawoju bocznego obustronnie.

„-” wynik statystycznie nieznamienny $p > 0,05$;

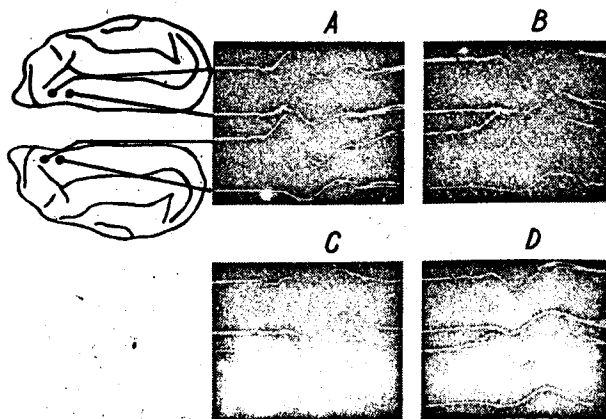
„++” wynik statystycznie znamienny $p < 0,05$;

„+++” wynik statystycznie wysoce znamienny $p < 0,001$

↑ — biorąc pod uwagę znamienność statystyczną, sumarycznie — wzrost amplitudy.

↓ — jak wyżej, spadek amplitudy.

Dane procentowe są średnią z 10 odczytów obliczonych w stosunku do wartości otrzymanych po przymocze z roztworem fizjologicznym NaCl.



Ryc. 6. Wpływ THK-1 na prawostronną AO u kota z przeciętym spoidłem wielkim. A — zapis wyjściowy, B — 2 min., C — 5 min., D — 20 min. po podaniu związku. Oznaczenia — jak na ryc. 5.

dająca uprzeciętniony obraz wpływów powstałych w następstwie drażnienia chemicznego.

THK-1 podana na stronę prawą, czyli po stronie drażnienia elektrycznego, powodowała obustronne pogłębienie załamka dodatniego oraz wzrost fazy ujemnej. Natomiast podanie LSD na korę po stronie lewej, przeciwnej do strony drażnienia nerwu kulszowego, wywoływało również pogłębienie załamka dodatniego, ale obniżenie fazy ujemnej po stronie nakorowej przymoczki, a nadto efekt przeciwny po drugiej stronie.

Przecięcie spoidła wielkiego, jak widać na ryc. 6 — znosiło wpływ prawostronnego drażnienia chemicznego na AO po stronie lewej.

OMÓWIENIE

PO składa się z dwóch zasadniczych elementów: 1) załamek dodatniego, mającego być przedstykowym potencjałem czynnościowym zsumowanych impulsów, zdążających jednostykową poprzezspoidłową drogą do kory, 2) fali ujemnej o charakterze pozastykowym [10]. Obniżenie amplitudy PO byłoby jednoznaczne z procesem tłumienia i blokowania przewodnictwa stykowego na drogach poprzezspoidłowych, a wzrost napięcia odpowiedzi oznaczałby większe ułatwienie przekazywania impulsów we włóknach międzypółkulowych spoidła wielkiego [3]. Obydwie grupy badanych tu związków, zgodnie z ich charakterem neuro-psychotropowym, wpływały na przewodnictwo poprzezspoidłowe. W oparciu o powyższe klasyczne założenia, BLON wraz z pochodnymi, które wywoływały depresję PO, należałoby zaliczyć do związków hamujących przewodnictwo stykowe, natomiast grupę pochodnych karbolinowych, które powodowały wzrost amplitudy odpowiedzi, można uważać za substancje o pobudzającym działaniu synaptycznym. O ich ułatwiającym wpływie na przewodnictwo synaptyczne może świadczyć ponadto powstawanie oscylacji wtórnych oraz załamek późnych. Stwierdzenie efektu ułatwiającego wywołanego przez pochodne karbolinowe stanowi przykład ich ośrodkowego antyserotoninowego działania. Marrazzi bowiem, posługując się podobną metodą PO, określił serotoninę jako „hamulcowy neurohormon synaptyczny”.

Badania Purpury i współpr. [11] oraz przedstawione tu wyniki uzyskane za pomocą AO wykazują, że zagadnienia przewodnictwa poprzezspoidłowego są bardziej złożone od uproszczonych założeń klasycznego ujęcia. Z tego punktu widzenia zmianie ulega przede wszystkim tłumaczenie podstawowych zagadnień elektrogenyzy korowej. Zarówno dodatni, jak i ujemny załamek PO mogą mieć pozastykowy charakter. Ponadto zmienia się kąt widzenia określający znaczenie załamek ujemnego późnego. Gdyby przenieść na grunt badań obecnych pogląd Ecclesa [1] i O'Leary'ego [8] utrzymujący, że późna komponenta ujemna bezpośrednich odpowiedzi korowych może być wyrazem jednej z odmian hamowania synaptycznego, to wtedy wzrost amplitudy ujemności późnej nie oznaczałby wzmożonego pobudzenia ani większego ułatwienia przewodnictwa. Dalszy efekt, utrudniający interpretację zjawisk przewodnictwa, to stwierdzenie, że droga poprzezspoidłowa ma prawdopodobnie budowę wielostykową i nie tak prostą, jak to zakłada schemat Marrazziego [10]. Wpływy, które się szerzą za pośrednictwem spoidła, zależą od strony

drażnienia, a raczej od wzajemnych stosunków bodźców drażniących, stosowanych równocześnie.

Uwzględnienie tych faktów pozwala dokładniej, jakkolwiek mniej jednoznacznie, określić synaptyczny charakter pochodnych karbolinowych, które — jak to wykazano także w pracy poprzedniej [14] — w zależności od rodzaju synaps ośrodkowych mogą przejawiać działanie zarówno ułatwiające, jak i blokujące.

Stosowanie bezpośredniego, nakorowego drażnienia chemicznego pozwoliło natomiast uniknąć trudności interpretacyjnych występujących przy podawaniu związków poprzez układ tęcznic szyjnych oraz koniecznej w takim wypadku eliminacji tych składowych odpowiedzi, które wiążą się z wpływem obwodowym (z zatoki szyjnej) lub nawet ośrodkowym, lecz pozakorowym (z układu siateczkowatego pnia).

Summary

J. Trąbka, S. Wollarth

AN ATTEMPT OF DETERMINATION OF SYNAPTIC CHARACTER OF ACTION OF TETRAHYDROPYRIDOINDOLE AND γ -BUTYROLACTONE DERIVATIVES

The authors tried to determine the synaptic character of compounds of two different chemical classes - pyridoindole and butyrolactone derivatives. The monosynaptic transcallosal path was the object of the experiments. The transcallosal (Curtis') evoked responses and association responses from symmetric homonomic cortical areas were recorded. The both groups of compounds, applied supracortically in tampones, deformed the both kinds of evoked responses.

The results have shown that pyridoindoles abolished specifically the negative deflexions of the responses, what suggested the possible synaptic mechanism of their action; this action was disclosed at axonal-dendritic and axonal-axonal junctions. On the other hand, γ -butyrolactone derivatives, particularly unsubstituted γ -butyrolactone, depressed all the evoked response. This type of action suggests rather either their depolarizing properties, exerted on the whole cell membrane, or the action of the drugs on the cell metabolism.

Piśmiennictwo

1. Eccles J. C.: Brain Mechanisms ed. G. Moruzzi, A. Fessard, H. H. Jasper — Elsevier Ed., N. Y. 1963, 263. — 2. Grundfest H.: Neuropsychopharmacology ed. K. Bradley P. B., Fügél F., Hoch P. — Elsevier Ed., N. Y. 1964, 3, 245. — 3. Guth P. S., Spirtes A. M.: w Bradley P. B., Deniker P., Radonco-Thanas. Neuropsychopharmacology — Elsevier, Amsterdam 1963, 319. — 4. Hano J., Trąbka J., Sierostawska M.: Arch. Inmun. Therap. Exp., (w druku). — 5. Heimer L., Ebner F. F., Nauta W. J. H.: Brain Research, 1967, 5, 171—177. — 6. Koella W. P., Smythies J. R., Bull D. M.: Sci. 1959, 129, 1231. — 7. Koella W. P., Levy C. K.: Am. J. Physiol., 1960, 198, 205. — 8. O'Leary J. L.: — Brain Mechanisms ed. G. Moruzzi, A. Fessard, H. H. Jasper — Elsevier — N. Y. 1963, 258—261. — 9. Magni F., Melzack E., Smith C. J.: EEG Clin. Neuroph., 1960, 12, 517. — 10. Marrazzi A. S.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 1957, 66, 496.
11. Purpura D. P., Girado M., Grundfest H.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1957, 95, 791. — 12. Trąbka J.: Dissert. Pharm., 1964, 16, 419. — 13. Trąbka J.: Acta Physiol. Polon. (w druku). — 14. Trąbka J., Wollarth S.: Dissert. Pharm. Pharmacol., 1967, 19, 63.